QuickStripe™ Strep A

Teste rápido para a detecção qualitativa do antigénio de Strep A em amostras de zaragatoas da garganta.
Para diagnóstico in vitro profissional.

Manual de Instruções
Catálogo N.º 41202

Kit de teste para 20 determinações
Apenas para uso profissional
Para Diagnóstico *In Vitro*

Armazenar a 4-30º C. **Não Congelar**

Savyon®Diagnostics Ltd
3 Habosem St. Ashdod 77610
ISRAEL
Tel: +972.8.8562920
Fax: +972.8.8523176
E-mail: support@savyondiagnostic.com

UTILIZAÇÃO

QuickStripe™ Strep A é um imunoensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa do antigénio de Strep A em zaragatoas provenientes da garganta para auxiliar o diagnóstico de infecções por Streptococcus do Grupo A.

SUMÁRIO

O *Streptococcus pyogenes* é um coccus gram-positivo sem mobilidade, que contém o antigénio Lancefield grupo A que pode causar infecções graves tais como faringites, infecção respiratória, impetigo, endocardites, meningites, sepsis puerperal e artrite.[1] Quando não tratadas, estas infecções podem levar a complicações sérias, incluindo a febre reumática e abcessos peritonsillar[2]. Os procedimentos tradicionais de identificação para infecções por Streptococcus do Grupo A, envolvem o isolamento e identificação de organismos viáveis recorrendo a técnicas que requerem pelo menos 24 a 48 horas. [3,4]
QuickStripe™ Strep A é um imunoensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa do antigénio de Strep A em zaragatoas provenientes da garganta, fornecendo resultados em 5 minutos. O teste utiliza anticorpos específicos para detectar selectivamente o antigénio de *Streptococcus* do grupo A em zaragatoas provenientes da garganta.

PRINCÍPIO

QuickStripe™ Strep A é um imunoensaio qualitativo, de fluxo lateral, para a detecção de antigénio de Strep A a partir de zaragatoas provenientes da garganta.
Neste teste, anticorpos específicos para o antigénio de Strep A revestem a região da linha de teste. Após imersão da tira de teste na amostra, a solução com os antigénios extraídos vai reagir com os anticorpos para *Strep A* que se encontram a revestir partículas. Esta mistura vai migrar na membrana até reagir com os anticorpos de *Strep A* na membrana e originar uma linha colorida na região da linha de teste. A presença desta linha colorida na região da linha de teste indica um resultado positivo, sendo a sua ausência sinal de um resultado negativo. Será sempre visível uma linha colorida na região da linha de controlo, a qual funciona como um procedimento de controlo para assegurar que o volume de amostra adicionado foi suficiente, tendo ocorrido migração na membrana.

REAGENTES

A tira de teste contém partículas revestidas com anticorpos para *Strep A* e anticorpos de *Strep A* a revestir a membrana.

PRECAUÇÕES

- Usar apenas a nível profissional para diagnóstico *in vitro*. Não usar após expirado o prazo de validade.
- Não comer, beber ou fumar perto da área onde as amostras e os kits são manipulados.
- Todas as amostras deverão ser manipuladas como potencialmente infecciosas. Devem ser respeitadas todas as precauções estabelecidas contra o risco microbiológico durante o ensaio e seguidos os procedimentos padrão para a eliminação adequada das amostras.
- Usar vestuário protector, tais como batas de laboratório, luvas descartáveis e óculos de protecção, sempre que as amostras estejam a ser analisadas.
- A humidade e a temperatura podem prejudicar os resultados.
- Não usar o teste se o envelope estiver danificado.
- O Reagente B contém uma solução ácida. Se a solução entrar em contacto com a pele ou olhos, lave imediatamente com água abundante.
- Os controlos positivos e negativos contêm azida de sódio (NaN_3) como conservante.
- Não troque as tampas de reagentes.
- Não troque as tampas das soluções de controlo externo.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O armazenamento deverá ser feito nos envelopes individuais à temperatura ambiente ou no frigorífico (2-30°C). A tira de teste é estável até ao termo do prazo de validade impresso no envelope. A tira de teste deverá permanecer no envelope selado até que seja utilizado. **NÃO CONGELAR.** Não usar para além do prazo de validade.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- Colher as amostras provenientes da garganta com a zaragatoa estéril fornecida com o kit. A amostra deverá ser colhida na região posterior da faringe, amígdalas e outras regiões inflamadas. Evite o contacto com a língua, dentes e mucosa oral. [5]
- Recomenda-se que as amostras sejam analisadas o mais brevemente possível após a sua colheita. Se a análise imediata não for possível as zaragatoas poderão ser armazenadas à temperatura ambiente até 4 horas.
- Se for necessário realizar uma cultura, deslize suavemente a extremidade da zaragatoa num agar de sangue selectivo para Grupo A (GAS) antes de utilizar a zaragatoa com o QuickStripe™ Strep A.

MATERIAIS

Materiais Fornecidos

• Tiras de teste • Zaragatoas Estéreis • Estação de trabalho	• Folheto informativo • Tubos de teste
• Reagente A Strep A (Nitrito de Sódio 2M) 	R25 Tóxico se engolido S1/2 Mantenha fechado e longe do alcance das crianças S45 Em caso de acidente ou indisposição, procure conselho medico imediatamente (apresente esta informação) S60 Este material deve ser descartado como material biológico perigoso.
• Reagente B Strep A (Ácido Acético 0.4M) • Controlo Positivo Strep A (Strep A inviáveis ; 0.09% NaN_3) • controlo negativo Strep A (Strep C inviáveis ; 0.09% NaN_3)	Ficha de segurança disponível para profissionais, sob pedido

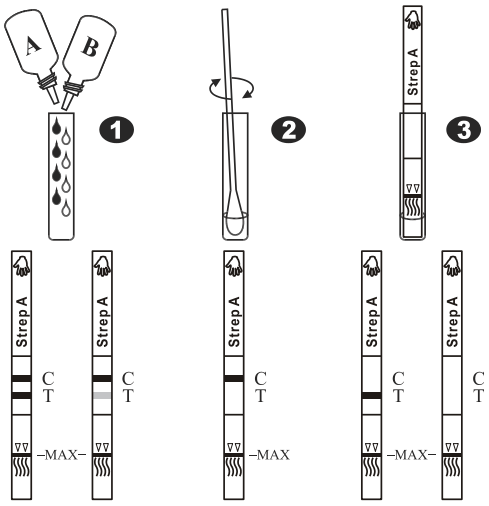
Materiais necessário mas não fornecidos

- Cronómetro

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

A tira de teste, os reagentes, as amostras, e/ou controlos deverão atingir a temperatura ambiente (15-30°C) antes de se dar início ao ensaio.

1. Antes de retirar a tira de teste do envelope selado, coloque a embalagem à temperatura ambiente. Retire a tira de teste e utilize-a de imediato.
2. Coloque na vertical o frasco de Reagente A e **adicione 4 gotas** (aproximadamente 240 μL) de Reagente A a um tubo de extracção. O Reagente A apresenta coloração vermelha. Coloque o frasco de Reagente B na vertical e **adicione 4 gotas** (aproximadamente 160 μL) de Reagente B. O reagente B é incolor. Homogeneíze a solução agitando suavemente o tubo de extracção. A adição do Reagente B ao Reagente A altera a coloração da solução de vermelho para amarelo. Ver figura 1.
3. **Coloque de imediato a zaragatoa contendo a amostra no tubo de extracção com a solução amarela**. Faça um movimento de rotação com a zaragatoa, **pelo menos 10 vezes.** Deixe a zaragatoa no interior do tubo durante **1 minuto**. De seguida pressione a extremidade da zaragatoa contra a parede interior do tubo para **eliminar o excesso de líquido**. Descarte a zaragatoa. Ver figura 2.
4. Introduza a tira de teste, na posição vertical e com as setas direccionadas para baixo, na solução de extracção da amostra e inicie a contagem do tempo. Para que o procedimento seja correctamente seguido, a solução não deverá ultrapassar a linha (MAX) da tira de teste, quando este é imerso. Ver figura 3.
5. A tira de teste deve permanecer no tubo de extracção até aparecer(em) a(s) linha(s) colorida(s). **Ler os resultados ao fim de 5 minutos.** Não interpretar o resultado ao fim de 10 minutos.



INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

(Ver figura acima)

POSITIVO:* Formam-se 2 linhas coloridas. Uma linha deve estar posicionada na região de controlo (C) e a outra deverá ficar posicionada na região de teste (T). Um resultado positivo indica que o antigénio de Strep A foi detectado na amostra.

***NOTA**: A intensidade da cor da linha de teste (T) varia consoante a concentração de antigénio de Strep A presente na amostra. Desta forma, qualquer cor que surja na região da linha de teste (T), mesmo que pálida, será considerado um resultado positivo.

NEGATIVO: Forma-se apenas uma linha colorida na região da linha de controlo (C). Não se forma uma linha colorida na região da linha de teste (T). Um resultado negativo indica que o antigénio de StrepA não está presente na amostra, ou está presente em quantidades inferiores aos níveis detectáveis pelo teste. A amostra deste doente deverá ser cultivada para confirmar a ausência de uma infecção por Strep A. Se os sintomas clínicos não forem consistentes com os resultados, dever-se-á obter uma nova amostra para cultura.

INVÁLIDO: A linha de controlo não aparece. As razões mais prováveis para a ausência da linha de controlo são um volume insuficiente de amostra ou erros associados à execução do protocolo. Reveja o procedimento e repita o teste com uma nova tira de teste. Se o problema persistir, páre de utilizar este teste e contacte o seu distribuidor local.

CONTROLO DE QUALIDADE

Controlo de Qualidade Interno

Estão incluídos protocolos para o controlo de qualidade interno do teste. O aparecimento de uma linha colorida na região da linha de controlo (C) constitui um procedimento de controlo interno. Confirma que o volume de amostra utilizado foi suficiente, que a tira foi submersa de forma adequada e que o procedimento utilizado foi o correcto.

Controlo de Qualidade Externo

É recomendado usar um controlo externo positivo e negativo após a realização de 25 testes e sempre que se considerar necessário, por técnicas laboratoriais internas. Os controlos externos positivo e negativo são fornecidos no kit. Em alternativa, estirpes de referência de

Streptococcus do Grupo A e de outros *Streptococcus* que não os do Grupo A, poderão ser usados como controlo externo. Alguns controlos disponíveis no mercado poderão conter substâncias que interfiram com o resultado, pelo que o seu uso não é recomendado.

Procedimento para o Teste de Controlo de Qualidade Externo

1. Adicionar 4 gotas do Reagente A e 4 gotas do Reagente B num tubo de teste de extracção. Misturar a solução agitando suavemente o tubo.
2. Adicionar uma gota de solução de controlo positivo ou negative no tubo de extracção, segurando o frasco conta-gotas na vertical.
3. Colocar uma zaragatoa limpa no tubo de extracção e agitar a zaragatoa na solução, rodando-a pelo menos 10 vezes. Deixar a zaragatoa no tubo durante 1 minuto. Retirar a zaragatoa do tubo e, simultaneamente, o excesso de líquido que contém, comprimindo-a contra a parede do tubo, à medida que é recolhida. Descartar a zaragatoa.
4. Continuar o procedimento, seguindo com o ponto 4 das Instruções de Utilização.
5. Se os controlos não produzirem os resultados esperados, não utilize os resultados do teste. Repita o teste ou contacte o seu distribuidor.

LIMITAÇÕES

1. O teste QuickStripe™ Strep A destina-se apenas para utilização de diagnóstico *in vitro.* O teste deve ser usado para detecção de antigénio de Strep A unicamente em amostras provenientes de zaragatoas de garganta. Este teste qualitativo não permite determinar valores quantitativos de concentração do antigénio de Strep A nem taxas de aumento dessa concentração.
2. Este teste apenas indica a presença do antigénio de Strep A em amostras contendo *Streptococcus* do Grupo A viáveis ou não viáveis.
3. Um resultado negativo deverá ser confirmado por cultura. Um resultado negativo pode ser obtido se a concentração do antigénio de Strep A presente na zaragatoa da garganta não é a adequada ou se encontra abaixo do nível detectado pelo teste.
4. As zaragatoas estéreis fornecidas com este teste devem ser usadas na colheita da amostra. Não foram validadas outras zaragatoas para este teste.
5. Excesso de sangue ou muco presente na zaragatoa poderá interferir com o desempenho do teste e poderá originar um resultado falso positivo. Durante a colheita, evite tocar na língua, bochechas, dentes e qualquer outra área de sangramento da boca com a zaragatoa.
6. À semelhança dos outros testes de diagnóstico, todos os resultados deverão ser interpretados com a informação clínica disponível.

VALORES ESPERADOS

Aproximadamente 15% das faringites em crianças com idades compreendidas entre os 3 meses e os 5 anos são causadas por Streptococcus beta-hemolíticos do Grupo A[6]. Nas crianças em idade escolar e adultos, a incidência de infecção da garganta por Strep é cerca de 40% [7]. Esta doença geralmente ocorre no inverno e no início da primavera em climas temperados. [3]

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade e Especificidade

Um total de 499 amostras de zaragatoas da garganta foram colhidas de doentes com sintomas de faringite, em três centros médicos. Cada zaragatoa foi usada para semear uma placa de agar com sangue de carneiro e posteriormente testada pelo QuickStripe™ Strep A. As culturas obtidas em placa foram posteriormente para isolamento e depois incubadas a 37ºC numa atmosfera de CO_2 de 5-10% com um disco de bacitracina durante 18-24 horas. As culturas que deram um resultado negativo foram ainda incubadas por mais 18-24 horas. Possíveis colónias de GAS foram sub-cultivadas e confirmadas com um kit de aglutinação em latex, disponível no mercado.

Do total das 499 amostras, 375 foram negativas e 124 foram positivas, confirmadas por cultura. Durante este estudo, duas amostras com Strep F originaram resultados positivos no teste. Uma destas espécies foi cultivada e testada novamente, tendo originado um resultado negativo. Três estirpes diferentes de Strep F adicionais foram cultivadas e testadas para avaliação de reactividade cruzada e originaram igualmente resultados negativos.

Método		**Cultura**		**Total de Resultados**
QuickStripe Strep A	**Resultados**	Positivo	Negativo	
	Positivo	120	20	140
	Negativo	4	355	359
Total de Resultados		124	375	499

Sensibilidade Relativa: 97% (91%-99%)*

Especificidade Relativa: 95% (92%-97%)*

Precisão: 95% (93%-97%)* * 95% Intervalos de confiança

Classificação de cultura positiva	**Teste rápido StrepA / Cultura**	**% resultados correctos**
Rara	10/11	91%
1+	9/9	100%
2+	17/19	89%
3+	36/37	97%
4+	48/48	100%

Reactividade cruzada

Os seguintes organismos foram testados usando uma concentração de 1.0 x 10^7 organismos por teste e originaram resultados negativos quando testados com o QuickStripe™ Strep A. Não foram testadas estirpes produtoras de muco.

Group B Streptococcus	*Neisseria meningitidis*	*Serratia marcescens*
Group F Streptococcus	*Neisseria sicca*	*Klebsiella pneumoniae*
Streptococcus pneumoniae	*Branhamella catarrhalis*	*Bordetella pertussis*
Streptococcus mutans	*Group C Streptococcus*	*Neisseria gonorrhea*
Staphylococcus aureus	*Group G Streptococcus*	*Neisseria subflava*
Corynebacterium diphtheria	*Streptococcus sanguis*	*Hemophilus influenza*
Candida albicans	*Enterococcus faecalis*	
Pseudomonas aeruginosa	*Staphylococcus epidermidis*	

ESTUDOS POL

Foram usados 3 locais diferentes de técnicos para realizar uma avaliação do QuickStripe™ Strep A. Pessoas com várias formações académicas realizaram o teste. Cada local testou uma série de amostras ao acaso que consistia num conjunto de 20 negativas, 20 positivas e 20 fracas

positivas, durante 3 dias. Os resultados obtidos apresentaram 96% de correlação com os resultados esperados.

BIBLIOGRAFIA

1. Murray, P.R., et al. Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition, ASM Press, Washington D.C. p. 299-307.
2. Webb, KH. Does Culture Confirmation of High-sensitivity Rapid Streptococcal Tests Make Sense? A Medical Decision Analysis. Pediatrics (Feb 1998), 101:2, 2.
3. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM, Kaplan EL, Schwartz RH. Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis. Clinical Infectious Diseases (1997), 25: 574-83.
4. Needham CA, McPherson KA, Webb KH. Streptococcal Pharyngitis: Impact of a High-sensitivity Antigen Test on Physician Outcome. Journal of Clinical Microbiology (Dec 1998), 36: 3468-3473.
5. Shea, Y.R., Specimen Collection and Transport, Clinical Microbiology Procedures Handbook, Isenberg, H.D., American Society of Microbiology, Washington D.C., 1.1.1-1.1.30, 1992.
6. Nussinovitch, M, Finkelstein Y, Amir J, Varsano, I. Group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis in preschool children aged 3 months to to 5 years. Clinical Pediatrics (June 1999), 38: 357-360.
7. Woods WA, Carter CT, Stack M, Connors Jr AF, Schlager TA. Group A Streptococcal Pharyngitis in Adults 30 to 65 years of age. Southern Medical Journal (May 1999), 491-492.

Savyon Diagnostics Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 77610
ISRAEL
Tel.: +972.8.8562920
Fax : +972.8.8523176
E-mail: support@savyondiagnostics.com

CE

Representante Europeu Autorizado: Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels
Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03
E-mail:mail@obelis.net